



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**Aktenzeichen:** 103 61 073.1  
**Anmeldetag:** 22. Dezember 2003  
**Anmelder/Inhaber:** Innovatis AG, 33607 Bielefeld/DE  
**Bezeichnung:** Verfahren und Vorrichtung zur Aufnahme  
mikroskopischer Bilder  
**IPC:** G.01 N 15/14

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-  
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 28. Oktober 2004  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
Der Präsident  
Im Auftrag



Schäfer

Deutsche Patentanmeldung

Anmelderin:

Innovatis AG

Meisenstrasse 96

D-33604 Bielefeld

Verfahren und Vorrichtung zur Aufnahme mikroskopischer Bilder

Die Erfindung befasst sich mit der Erzeugung mikroskopischer Bilder durch Scannen einer Durchflussküvette mit einem optischen Sensor.

Die innovatis AG entwickelt, produziert und vertreibt Geräte zur Partikel- und Zellanalyse. Zur Analyse der Zelldichte, zur Klassifizierung in lebende und tote Zellen und zur Bestimmung von Objektdurchmesser und Objektgeometrie werden Bilder von Partikeln oder Zellen aufgenommen. Die Objekte befinden sich während der Analyse in einer optisch geeigneten Küvette in Suspension.

Stand der Technik

Die bisher auf dem Markt bestehenden, automatischen Systeme zur Untersuchung von Dichte, Viabilität und Durchmesser zellhaltiger Suspensionen biologischen Ursprungs basieren auf der Messung des elektrischen Widerstandes, der elektrischen Kapazität, der Laserdiffraktometrie oder der optischen Bildanalyse.

Die Auswertung von Objekten mittels optischer Bildaufnahme und einer digitalen Bildanalyse wurde bisher durch die Verwendung eines Mikroskops realisiert, wobei eine Mikroskop-Optik zur Vergrößerung der teilweise nur wenige Mikrometer kleinen Objekte benutzt wird. Das so erzeugte Bild wird mit einer Digitalkamera aufgenommen und von speziellen Computer-Programmen ausgewertet.

Als Beispiel für das herkömmlich angewendete, automatische Verfahren ist das Cedex System (innovatis AG) zu nennen. Dieses System arbeitet mit einer angepassten Mikroskop-

Optik, die es ermöglicht, Zelldichten und Viabilitäten von Suspensionszellen zu bestimmen. Nach demselben Prinzip wird eine Analyse der Zellkultur durch das nachfolgend entwickelte Vi-CELL System (Beckman Coulter Inc.) durchgeführt. Das zugrundeliegende Verfahren ist durch drei Parameter limitiert, die es nicht erlauben unterhalb einer bestimmten Objektgröße zu detektieren:

### 1. Tiefenschärfe

Um mit Hilfe einer Mikroskop-Optik Objekte in einer Durchflussküvette aufnehmen zu können, müssen über die gesamte Küvettehöhe hin die Objekte hinreichend scharf abgebildet werden.

### 2. Küvettehöhe

Die Küvette muss so groß sein, dass genügend Objekte für eine statistische Signifikanz aufgenommen werden, und gleichzeitig klein genug, um die Tiefenschärfe über den gesamten Bereich der Küvettenhöhe zu ermöglichen.

### 3. Objektanzahl

Durch die Methode der Bildaufnahme ist es nicht möglich unterhalb einer Objektdichte von  $5 \times 10^4$  Objekten pro mL Suspension zu detektieren, ohne den Bereich der statistischen Signifikanz zu verlassen.

Da die Tiefenschärfe proportional zu  $1/NA^2$ , die optische Auflösung proportional zu  $1/NA$  ist (mit  $NA$  = Numerische Apertur), nimmt bei Verkleinerung der Auflösung um detailreichere Bilder zu erhalten die Tiefenschärfe quadratisch dazu ab.

Bei dem herkömmlich angewendeten Verfahren wird die Messküvette mit dem Probenmaterial komplett gefüllt und mit der Mikroskop-Optik eine Tiefenschärfe eingestellt, die sich über den gesamten Bereich der Küvettenhöhe erstreckt. Um den Bereich der

statistischen Signifikanz zu erreichen, müssen entsprechend viele Bilder der Probe durch sukzessive Befüllung der Küvette aufgenommen werden.

## Aufgabe

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es insbesondere, ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Aufnahme von Bildern im mikroskopischen Bereich zu schaffen, durch die eine hohe optische Auflösung erzielbar ist. Weitere Aufgabenstellungen ergeben sich aus den insgesamt dargestellten Lösungen und Vorteilen.

## Erfindung

Die Merkmale der Erfindung sind in den unabhängigen Ansprüchen wiedergegeben. Weitere Merkmale der Erfindung bzw. vorteilhafte Weiterbildungen derselben sind in den Unteransprüchen und in der Beschreibung genannt.

An Stelle der Mikroskop-Optik mit Autofokus-Mechanik und -Elektronik sowie einer Digitalkamera (gegebenenfalls mit Framegrabber) wird ein Scanner verwendet, der insbesondere alle Funktionen der zuvor genannten herkömmlichen Komponenten ersetzen kann.

Mit Hilfe des Scanners kann, im Vergleich zum herkömmlichen Verfahren, in einem kurzen Zeitraum mehr Bilddatenmaterial aufgenommen werden. Ist die Probenkammer entsprechend groß, so hat man einen enormen Zeitgewinn, der es erlaubt, die Objekte absinken zu lassen, und in einem geringeren Fokusbereich zu agieren, und damit die optische Auflösung zu erhöhen. Mit diesem Verfahren können dann viel kleinere Objekte oder Partikel analysiert werden.

Abbildung 1 und 2 zeigen schematisch das herkömmliche und das neue Bildaufnahmeverfahren. Beide Bilder zeigen jeweils eine Durchflussküvette (3) mit optischer Achse (1) und Durchflussrichtung (2). Der senkrechte Doppelpfeil zeigt den für eine optimale Bildaufnahme benötigten Tiefenschärfebereich an.

Da ein reziprok quadratischer Zusammenhang besteht, wird bei dem neuen Verfahren die höhere optische Auflösung bei geringerer Tiefenschärfe gewählt, um Bilder des Probenmaterials in der Durchflussküvette aufzunehmen. Dies wäre beim herkömmlichen Verfahren nur in einem nicht vertretbaren Zeitrahmen durchführbar.

Das von der erfindungsgemäßen Vorrichtung gelieferte Bilddatenmaterial kann nachfolgend einer Bilddatenanalyse zugeführt werden.

Der wesentliche Vorteil der Vorrichtung ist es, dass eine hohe optische Auflösung einer Partikel- oder Zellsuspension erzielt wird. Dies wird u.a. durch Absinken der Objekte auf eine optische Ebene bei gleichzeitig hohem Probenvolumen erreicht. Das Absinken der Objekte kann durch Sedimentation oder weitere geeignete Verfahren erfolgen.

Die unterschiedlichen Techniken zur Ansammlung von Objekten innerhalb der Messküvette können sein:

- Adhäsion
- Repulsion
- Elektrische Wirkung
- Magnetische Wirkung
- Gravitation
- Zentrifugation
- Auftrieb
- Immobilisation
- Kopplung

sowie Kombinationen aus diesen Methoden.

Die Vorrichtung eignet sich für mikroskopische Aufnahmen unter Auflicht, Durchlicht, Fluoreszenz, Phasenkontrast, Dunkelfeld und Licht im sichtbaren und nicht-sichtbaren Bereich sowie alle daraus möglichen Kombinationen. Es kann des weiteren die dem aktuellen Stand der Technik entsprechenden weiteren Kontrastverfahren beinhalten.

Die zu untersuchenden Proben können Partikellösungen oder Zellmaterial biologischen Ursprungs sein, das sowohl ungefärbt als auch gefärbt untersucht werden können.

Es wird eine Bestimmung der Konzentration und Viabilität zellhaltiger biologischer Proben einer Kultursuspension sowie Apoptoseverhalten, Produktkonzentration und Analyse intrazellulärer Kompartimente und Stoffwechselvorgänge durchgeführt.

Es werden darüber hinaus folgende Parameter bestimmt: Durchmesser einzelner Objekte, Aggregationsrate, Geometrie, Anzahl der gezählten Objekte und Abweichung vom Mittelwert sowie Oberflächenbeschaffenheit und Morphologie.

Die Ergebnisdaten und Parameter werden mittels eines Computer-Verfahrens aus den aufgenommenen Bilddaten ermittelt.

Basis der Messung ist ein Verfahren (Mikroskopieverfahren und andere), bei dem die Partikel-/Zellhaltige Probe durch eine Küvette fließt (Durchflussküvette). Es werden mit einem optischen Zeilen- oder Flächensensor digitale Bilder der Probe in der Küvette aufgenommen, die dann mit einem Verfahren zur optischen Bildanalyse ausgewertet werden. Die prinzipielle Idee ist es, eine Vorrichtung (Scanner) so zu konstruieren, dass er die entsprechende Auflösung liefert, um auch im Mikrometer-Maßstab qualitativ hochwertig abbilden zu können. Dieses wird durch eine veränderte Optik, angepasste Autofokusverfahren und eine modifizierte Mechanik erreicht.

Die Bildaufnahme erfolgt in diesem Fall entweder durch eine Bewegung der Scannereinheit relativ zur Partikelprobe oder durch eine Bewegung der Partikelprobe relativ zur Scannereinheit. Dazu befindet sich die Küvette senkrecht im optischen Pfad.

Die Ausleserate des optischen Sensors wird mit der Verfahrensgeschwindigkeit synchronisiert, so dass ein oder mehrere Bilder entstehen.

Im Folgenden wird ein möglicher Ablauf des Verfahrens aufgelistet und erläutert:

- Einbringen der Probe in die Messküvette
- Absinken der Objekte der Probe in der Lösung

Ansammlung der Objekte in einer optischen Ebene. Beispielhaft wird dieser Vorgang im Weiteren als Sedimentation bezeichnet.

- Scannen

Digitale Bildaufnahme unter Berücksichtigung eines ausreichenden Volumens des Probenvolumens, um mit einem Bild ein statistisch repräsentatives Ergebnis erzielen zu können (siehe auch Abschnitt „Stand der Technik“).

- Analyse des Bilddatenmaterials

Speziell angepasste Analyse des Bilddatenmaterials zur Ergebnisermittlung.

- Anzeige und Export der Analysedaten

Benutzerfreundliche Präsentation der Ergebnisdaten als Zahlenwerte sowie als grafische Anzeige.

Mit diesem Verfahren ist es möglich, dass einzelne Objekte analysiert werden. Für den Fall der Analyse von Zellmaterial biologischen Ursprungs kann eine Analyse von Morphologie, Oberflächenbeschaffenheit etc. erfolgen.

Der durch die Integration einer Scannereinheit zur optischen Bilderfassung erzielte Nutzen ist gegeben durch die Vergrößerung des Detektionsbereichs. Eine entsprechende Scanneroptik kann von der Auflösung her deutlich geringere Objektdurchmesser analysieren, als es mit dem heutigen Stand der Technik möglich ist. Es können zusätzliche Informationen über Struktur und Morphologie der Objekte gewonnen werden.

Durch die Methode der Sedimentation kann es nun erstmals ermöglicht werden, dass alle Objekte einer Probe auf einmal aufgenommen und analysiert werden.

Da durch geeignete Wahl der Messküvette pro Volumeneinheit eine größere Objektanzahl ausgewertet werden kann, wird für das zur Anmeldung vorliegende Verfahren ein geringeres Probenvolumen benötigt, als es bei den Systemen aktueller Bauart üblich ist.

Die Vorteile wurden ausführlich bereits im Abschnitt „Stand der Technik“ erläutert.

## Beispielbeschreibung

Dem beschriebene Verfahren liegen mikroskopische Aufnahmen zu Grunde, die unter unterschiedlichen Bedingungen generiert wurden: Auflicht, Durchlicht, Fluoreszenzlicht, Phasenkontrast, weitere Kontrastverfahren, Dunkelfeld und Licht im sichtbaren und nicht-sichtbaren Bereich, sowie alle daraus möglichen Kombinationen.

Als Beispiel dazu sind im Folgenden drei mikroskopische Aufnahmeverfahren beschrieben.

Die Beschreibung des optischen Aufnahmeverfahrens wird durch folgenden Verfahrensablauf beschrieben. Für die Realisierung des Verfahrens können diese und weitere lichtgebende Verfahren miteinander kombiniert werden.

Die zu untersuchende Probenlösung / Suspension befindet sich in einer Küvette. Nach dem Einbringen des Zellmaterials wird gewartet, bis die zu untersuchenden Objekte auf den Küvettenboden sedimentieren. Dann wird ein Bild aufgenommen. Während der Bildaufnahme bewegen sich Küvette und Scanner relativ zueinander. Das heißt, dass sich entweder die Partikelprobe relativ zur Scannereinheit oder die Scannereinheit relativ zur Partikelprobe bewegt. Der Bereich der Küvette, der dabei aufgenommen wird, ist variabel.

### Beispiel (a) Durchlicht-Verfahren

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung für Durchlicht-Aufnahmen ist in Abb. 3 dargestellt und wird nachfolgend beschrieben.

Der optische Sensor 8 befindet sich auf der einen Seite der Küvette 6, die Lichtquelle 1 auf der gegenüberliegenden Seite. Für die Bündelung der Lichtstrahlen und zur Vergrößerung der Abbildung werden Beleuchtungsoptik 2, 3, 4, 5 und Objektiv 7 in den optischen Pfad eingebracht. Die Beleuchtungsoptik besteht aus Kollektorlinse 2, Leuchtfeldblende 3, Kondensorblende 4 und Kondensoroptik 5. Zusätzlich können mehrere Filter in den optischen Pfad eingebracht werden. Zur Beschickung der Küvette 6 mit der Probenlösung wird diese durch die Einlasskapillare 9 zugeführt und durch die Auslasskapillare 10 abgeführt. Die Bildaufnahme erfolgt entweder durch Bewegung der Scannereinheit relativ zur Partikelprobe 11 oder durch Bewegung der Partikelprobe relativ zur Scannereinheit 12, welche die Bauteile 1-5 und 7-8 aufweist.



### Beispiel (b) Dunkelfeldverfahren

Der optische Sensor 8 befindet sich auf der einen Seite der Küvette 6, die Lichtquelle 1 auf der gegenüberliegenden Seite. Für die Bündelung der Lichtstrahlen und zur Vergrößerung der Abbildung werden Beleuchtungsoptik, bestehend aus Kollektorlinse 2, Leuchtfeldblende 3 und Dunkelfeldblende 15, Kondensoroptik 5 und Objektiv 7 in den optischen Pfad eingebracht. Zusätzlich können mehrere Filter in den optischen Pfad eingebracht werden. Zur Beschickung der Küvette 6 mit der Probenlösung wird diese durch die Einlasskapillare 9 zugeführt und durch die Auslasskapillare 10 abgeführt. Die Bildaufnahme erfolgt entweder durch Bewegung der Scannereinheit relativ zur Partikelprobe 11 oder durch Bewegung der Partikelprobe relativ zur Scannereinheit 12, welche auch hier die Bauteile 1-5 und 7-8 aufweist.

### Beispiel (c) Fluoreszenz-Verfahren

Für Aufnahmen von Fluoreszenz-Bildern im Auflicht-Verfahren wird das von der Probe kommende Licht zum optischen Sensor geleitet, nachdem es den Strahlenteiler 3 passiert hat, der das Licht zur Probenbeleuchtung in den optischen Pfad einkoppelt.

Der optische Sensor 8 befindet sich auf einer optischen Achse mit der Küvette 6. Die Strahlen der Lichtquelle 1 werden mittels Beleuchtungsoptik gebündelt und kollimiert, bevor sie durch den Strahlenteiler 13 über das Objektiv 4 die Probe in der Küvette 6 beleuchten. Die Beleuchtungsoptik besteht aus Kollektorlinse 2 und Leuchtfeldblende 3 sowie weiteren Linsen 5 und einer weiteren Blende 4. Zusätzlich können entsprechende Filter 14 in den optischen Pfad eingebracht werden. Zur Beschickung der Küvette 6 mit der Probenlösung wird diese durch die Einlasskapillare 9 zugeführt und durch die Auslasskapillare 10 abgeführt. Die Bildaufnahme erfolgt entweder durch Bewegung der Scannereinheit relativ zur Partikelprobe 11 oder durch Bewegung der Partikelprobe relativ zur Scannereinheit 12.

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Aufnahme mikroskopischer Bilder mit hoher optischer Auflösung von in einer Flüssigkeit suspendierten Partikeln oder Organismen, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Suspension in eine Durchflussskivette eingebracht wird und das Bild der Suspension von einem optischen Sensor aufgenommen wird, wobei sich optischer Sensor und Durchflussskivette relativ zueinander bewegen und der Inhalt der Durchflussskivette dabei ganz oder teilweise abgebildet wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass sich der Sensor gegebenenfalls mit den optischen Elementen und der Lichtquelle entlang der Durchflussskivette bewegt.

3. Verfahren nach Anspruch 1,2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass sich die Durchflussskivette entlang des Sensors und gegebenenfalls der optischen Elemente und der Lichtquelle bewegt.

4. Verfahren nach Anspruch 1,2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass nach dem Einbringen der Suspension die enthaltenen Partikel zunächst auf den Boden der Durchflussskivette oder in einen Bereich oberhalb des Bodens absinken und damit nur noch ein Teil der Durchflussskivette die zu untersuchenden Partikel oder Organismen enthält, so dass dieser Bereich mit einer hohen optischen Auflösung abgebildet und vom optischen Sensor erfasst werden kann.

5. Verfahren nach Anspruch 1,2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass nach dem Einbringen der Suspension die enthaltenen Partikel zunächst zur oberen Begrenzungsfläche der Durchflussskivette oder in einen Bereich unterhalb der oberen Begrenzungsfläche aufsteigen und damit nur noch ein Teil der Durchflussskivette die zu untersuchenden Partikel oder Organismen enthält, so dass dieser Bereich mit einer hohen optischen Auflösung abgebildet und vom optischen Sensor erfasst werden kann.

6. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Absinken oder Aufsteigen der Objekte innerhalb der Küvette durch unterschiedliche biologische, physikalische oder chemische Techniken sowie durch Sedimentation oder Auftrieb erfolgen kann.

7. Verfahren nach Anspruch 1;2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Lichtquelle und gegebenenfalls Blenden- und Linsensysteme (Kondensor) auf einer Seite der Durchflussküvette, Objektiv (und gegebenenfalls Blendensysteme) und der optische Sensor auf der anderen, gegenüberliegenden Seite der Durchflussküvette angeordnet sind (Durchlichtbeleuchtung).

8. Verfahren nach Anspruch 1,2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Lichtquelle und gegebenenfalls Blenden- und Linsensysteme (Kondensor) auf derselben Seite der Durchflussküvette angeordnet sind, wie Objektiv (und gegebenenfalls Blenden) und der optische Sensor (Auflichtbeleuchtung).

9. Verfahren nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Durchlichtbeleuchtung als Hellfeldbeleuchtung ausgelegt wurde.

10. Verfahren nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Durchlichtbeleuchtung als Dunkelfeldbeleuchtung ausgelegt wurde.

11. Verfahren nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Durchlichtbeleuchtung als Phasenkontrastbeleuchtung mit den bekannten Phasenkontrastverfahren ausgelegt werden kann.

12. Verfahren nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Auflichtbeleuchtung als Fluoreszenzbeleuchtung mit den bekannten Fluoreszenzverfahren ausgelegt werden kann.

13. Verfahren nach Anspruch 9,10 oder 11, **dadurch gekennzeichnet**, dass eine geeignete Lichtquelle oder Einbringen eines oder mehrerer geeigneter Filter es ermöglicht, die Objekte in der Küvette mit einer definierten spektralen Intensitätsverteilung des einfallenden Lichtes zu beleuchten (Beleuchtungsseite).

14. Verfahren nach Anspruch 9, 10, 11, 12 oder 13, **dadurch gekennzeichnet**, dass eine geeignete Lichtquelle oder Einbringen eines oder mehrerer geeigneter Filter es ermöglicht, den optischen Sensor mit einer definierten spektralen Intensitätsverteilung des einfallenden Lichtes zu beleuchten (Nachweisseite).

15. Verfahren nach 9, 10, 11, 12, 13 **dadurch gekennzeichnet**, dass diese auch in den daraus resultierenden möglichen Kombinationen angewendet werden können.

16. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die zu untersuchende Suspension mit Farbstoffen versetzt ist.

17. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass alle oder ein Teil der eingesetzten Filter automatisch oder manuell gewechselt werden.

18. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass alle oder ein Teil der eingesetzten Objektive automatisch oder manuell gewechselt werden.

19. Vorrichtung zur Aufnahme mikroskopischer Bilder mit hoher optischer Auflösung von in einer Flüssigkeit suspendierten Partikeln oder Organismen, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Suspension in eine Durchflussskivette eingebracht wird und das Bild von einem optischen Sensor aufgenommen wird, wobei optischer Sensor und Durchflussskivette relativ zueinander bewegbar und der Inhalt der Durchflussskivette dabei ganz oder teilweise abbildbar ist.

20. Vorrichtung nach Anspruch 19, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Sensor gegebenenfalls mit den optischen Elementen und der Lichtquelle entlang der Durchflussskivette bewegbar ist.

21. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Durchflussskivette entlang des Sensors und gegebenenfalls der optischen Elemente und der Lichtquelle bewegbar ist.

22. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** Mittel, derart, dass nach dem Einbringen der Suspension die enthaltenen Partikel zunächst auf den Boden der Durchflussskivette oder in einen Bereich oberhalb des Bodens absinken und damit nur noch ein Teil der Durchflussskivette die zu

untersuchenden Partikel oder Organismen enthält, so dass dieser Bereich mit einer hohen optischen Auflösung abbildbar und vom optischen Sensor erfassbar ist.

23. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** Mittel, derart, dass nach dem Einbringen der Suspension die enthaltenen Partikel zunächst zur oberen Begrenzungsfläche der Durchflussküvette oder in einen Bereich unterhalb der oberen Begrenzungsfläche aufsteigen und damit nur noch ein Teil der Durchflussküvette die zu untersuchenden Partikel oder Organismen enthält, so dass dieser Bereich mit einer hohen optischen Auflösung abbildbar und vom optischen Sensor erfassbar ist.

24. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** Mittel, derart, dass das Absinken oder Aufsteigen der Objekte innerhalb der Küvette durch unterschiedliche biologische, physikalische oder chemische Techniken sowie durch Sedimentation oder Auftrieb erfolgen kann.

25. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Lichtquelle und gegebenenfalls Blenden- und Linsensysteme (Kondensor) auf einer Seite der Durchflussküvette, Objektiv (und gegebenenfalls Blendensysteme) und der optische Sensor auf der anderen, gegenüberliegenden Seite der Durchflussküvette angeordnet sind (Durchlichtbeleuchtung).

26. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Lichtquelle und gegebenenfalls Blenden- und Linsensysteme (Kondensor) auf derselben Seite der Durchflussküvette angeordnet sind, wie Objektiv (und gegebenenfalls Blenden) und der optische Sensor (Auflichtbeleuchtung).

27. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Durchlichtbeleuchtung eine Hellfeldbeleuchtung ist.

28. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Durchlichtbeleuchtung eine Dunkelfeldbeleuchtung ist.

29. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Durchlichtbeleuchtung als Phasenkontrastbeleuchtung mit den bekannten Phasenkontrastverfahren ausgelegt werden kann bzw. ist.

30. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Auflichtbeleuchtung als Fluoreszenzbeleuchtung mit den bekannten Fluoreszenzverfahren ausgelegt werden kann bzw. ist.

31. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine geeignete Lichtquelle oder einen oder mehrere geeigneter Filter, die es ermöglichen, die Objekte in der Küvette mit einer definierten spektralen Intensitätsverteilung des einfallenden Lichtes zu beleuchten (Beleuchtungsseite).

32. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine geeignete Lichtquelle oder einen oder mehrere geeignete Filter, die es ermöglichen, den optischen Sensor mit einer definierten spektralen Intensitätsverteilung des einfallenden Lichtes zu beleuchten (Nachweiseite).

33. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass diese auch in den daraus resultierenden möglichen Kombinationen angewendet werden können.

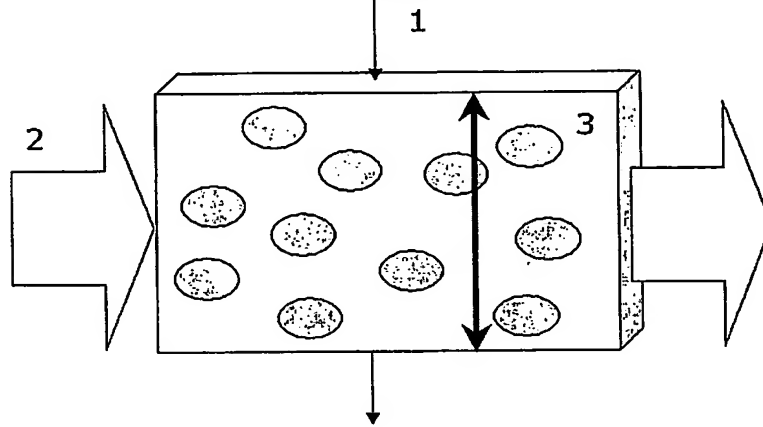
34. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die zu untersuchende Suspension mit Farbstoffen versetzt ist.

35. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass alle oder ein Teil der eingesetzten Filter automatisch oder manuell wechselbar sind.

36. Vorrichtung nach einem oder mehreren der voranstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass alle oder ein Teil der eingesetzten Objektive automatisch oder manuell wechselbar sind.

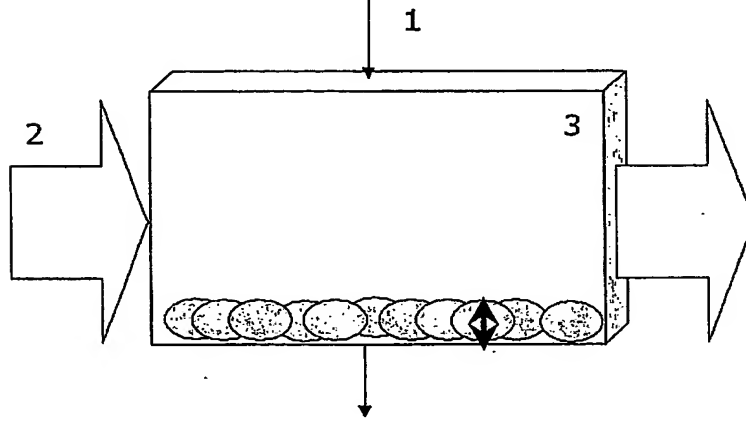
### Abbildung 1

Schemazeichnung des herkömmlichen Bildaufnahmeverfahrens



## Abbildung 2

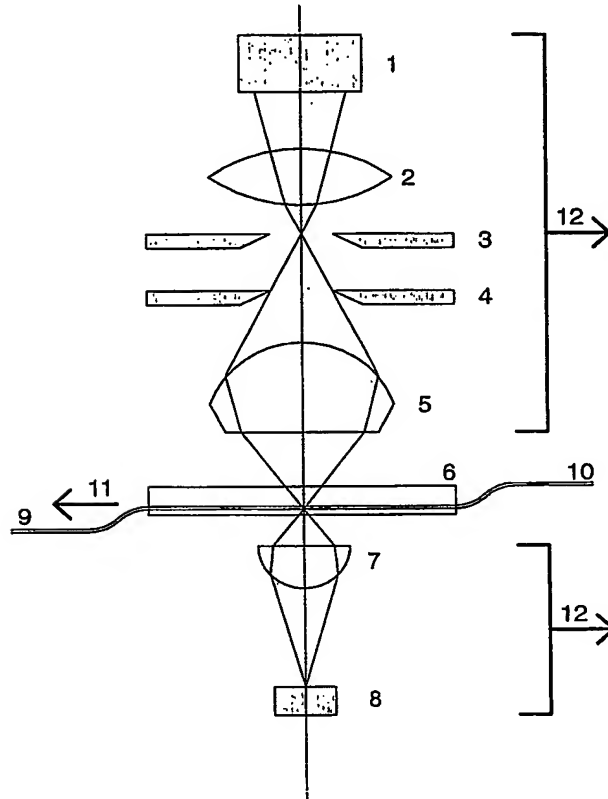
Schemazeichnung des Scanner Bildaufnahmeverfahrens





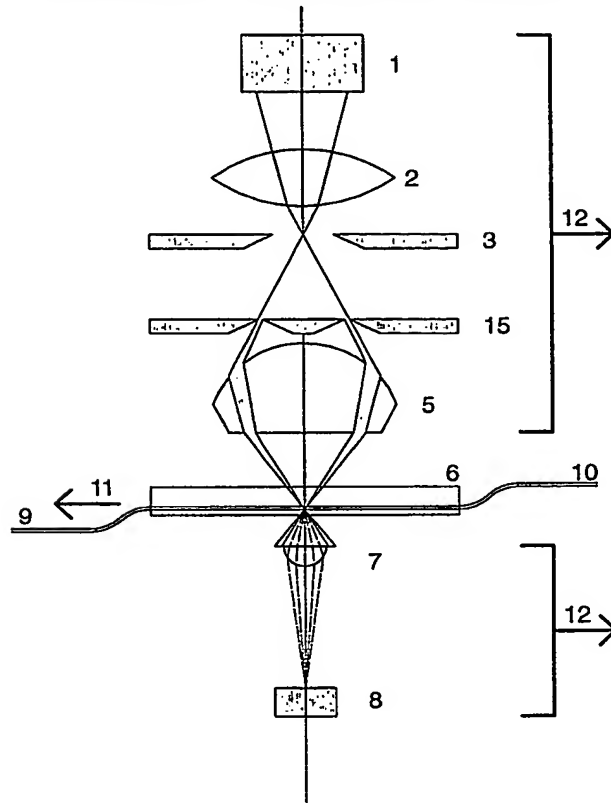
### Abbildung 3

#### Schemazeichnung Durchlicht-Verfahren



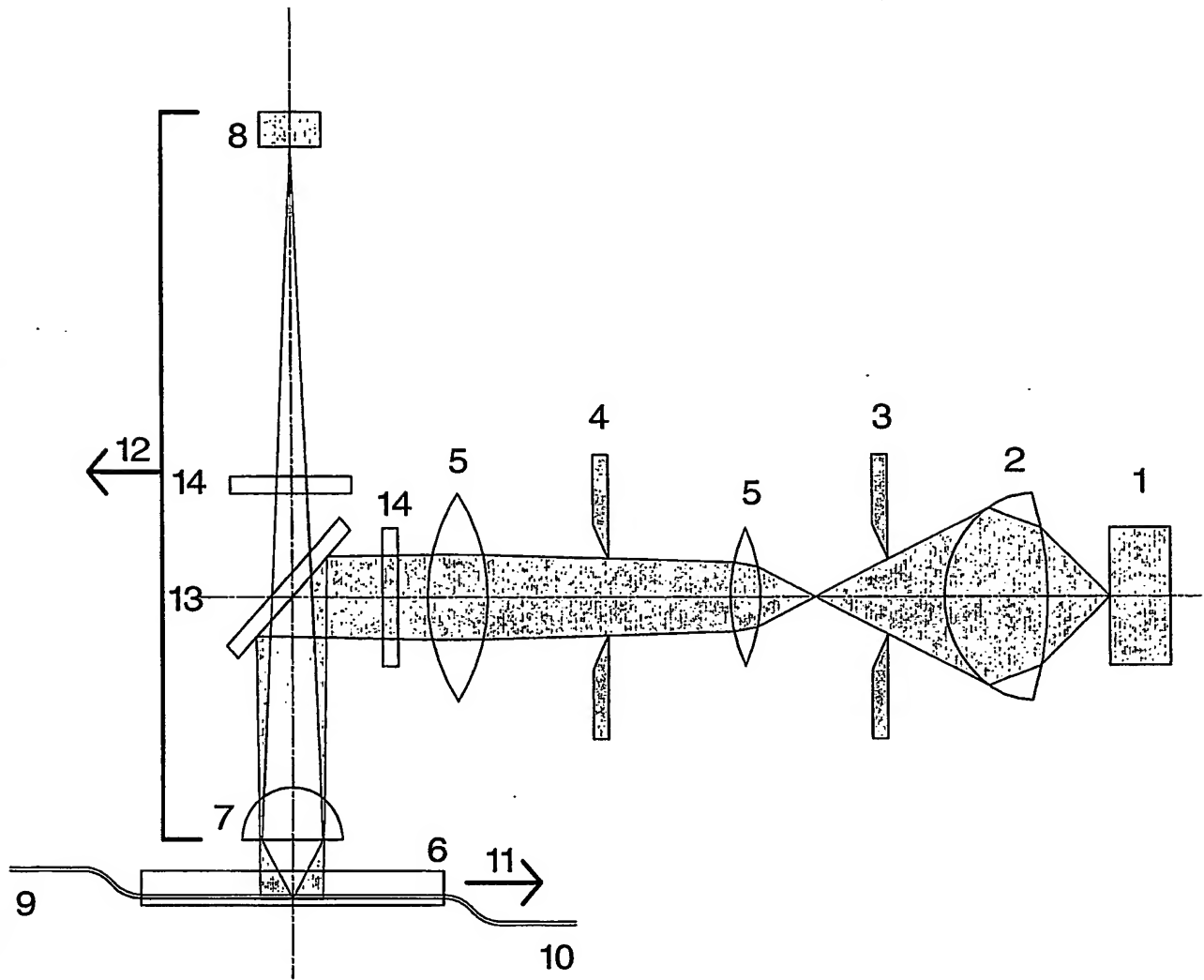
# Abbildung 4

## Schemazeichnung Dunkelfeld-Verfahren



# Abbildung 5

## Schemazeichnung Fluoreszenz-Verfahren



# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP04/014542

International filing date: 21 December 2004 (21.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE  
Number: 103 61 073.1  
Filing date: 22 December 2003 (22.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 27 January 2005 (27.01.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record.**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: \_\_\_\_\_**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**